doi:10.13866/j.azr.2018.04.01

荒漠草原植物骆驼蓬根际土壤细菌群落分析①

程 琳1, 陈吉祥[1], 李彦林[1], 王永刚[1], 周永涛[2], 张 彦[2]
(1. 兰州理工大学石油化工学院,甘肃 兰州 730050; 2. 中石油北京天然气管道有限公司,北京 100101)

摘 要: 骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)具有较强耐旱抗寒特性,在维护生态环境中发挥着重要作用。为了解其生态适应及与环境相互作用机制,采用高通量测序和纯培养方法研究了甘肃白银荒漠草原区骆驼蓬根际土壤细菌群落特征,并与周边土壤进行了对比。结果表明:骆驼蓬根际土壤主要优势细菌群为放线菌门(Actinobacteria)30.01%、变形菌门(Proteobacteria)23.98%、拟杆菌门(Bacteroidetes)11.53%、酸杆菌门(Acidobacteria)10.19%。周边荒漠草原土壤主要优势细菌群为放线菌门55.05%、变形菌门21.11%、酸杆菌门6.07%。可培养细菌类群包括厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门、放线菌门,其中根际土壤分离的优势菌为短杆菌属(*Brevibacterium*)23.53%、芽孢杆菌属(*Bacillus*)23.53%、假单胞菌属(*Pseudomonas*)17.65%,周边土壤可培养细菌的优势种群为节杆菌属(*Arthrobacter*)37.50%、芽孢杆菌属18.75%、假单胞菌属12.50%。骆驼蓬根际微生物群落组成和结构与周边土壤有显著差异,根际土壤微生物数量及多样性指数明显高于非根际土壤。研究结果对了解荒漠植物与根际微生物之间相互作用,揭示土壤微生物促进植物根际土壤物质循环转化作用,筛选促生长有益微生物,为加强荒漠草原生态保护提供科学依据。

关键词: 荒漠草原; 骆驼蓬(*Peganum harmala* L.); 根际土壤; 细菌群落; 高通量测序; 土壤微生物

土壤微生物是土壤养分和有机质循环转化的动力,影响着土壤结构、土壤肥力及地上植物健康等[1-4]。土壤微生物也是一个巨大的地下生物资源宝库,绝大多数环境微生物都是不可培养或难培养,可培养的微生物占自然界微生物总量0.01%~10%[5-6],从分类学角度准确描述和定义数量巨大的土壤微生物类群,一直是科学界面临的重大理论和技术难题[7]。随着分子生态技术和宏基因组学的发展,使全面了解土壤微生物组成及功能多样性成为可能。土壤微生物群落结构和组成的动态变化越来越多地被用来评估微生态系统的响应,并在一定程度上具有指示生态系统破坏与恢复程度的功能。相对于脆弱环境下的植物群落来讲,根际微生物是研究生态恢复与群落演替的重要指标,根际微生物能够更迅速地响应环境变化并协同植物共同完成环境修复。目前关于根际微生物的研究热点主要有根际微生物与植物病害[8-9]、营养物质吸收间的作用[10-11]、根际微生物的生物修复[12-13]和植物—微生物—土壤环境间的化感互作[14-15]等方面。

我国西北地区生态系统脆弱,土地盐渍化严重,由于人类过度干扰引起植被退化,生物多样性减少,荒漠化加剧。因此,加强荒漠植物保护和提高荒漠系统群落多样性具有重要意义[16]。目前,已有许多学者对荒漠草原植被及土壤微生物多样性进行了研究。如马文文等研究了甘肃金昌金川区荒漠草原土壤微生物数量、生物量和土壤酶活性[17]。金荣等研究了5种典型荒漠植物群落的微生物物种多样性[18]。杨阳等对宁夏荒漠草原6种优势植物长芒草、蒙古冰草、甘草、牛心朴子、黑沙蒿根际微生物多样性进行了研究[19]。深入理解根际微生物生化过程和植物—微生物相互作用的机理仍然是根际微生物工作所面临的重大挑战[14]。

骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)为蒺藜科(Zygophllaceae)骆驼蓬属(*Peganum*)多年生草本植物,广泛分布于我国西部新疆、甘肃、宁夏和内蒙古等干旱、半干旱地区。骆驼蓬根系发达,适应性强,有很强耐干旱、耐盐碱、抗寒特性,在维持西北地区尤其是民勤地区生态环境、抗风固沙、防治沙漠化和水土流失等方面发挥着重要作用[20]。目前对于骆驼蓬的研究主要集中在抗逆性、活性成分以及药理活性

① 收稿日期: 2017-05-04; 修订日期: 2018-04-10
基金项目: 国家自然科学基金(31272694)和中国石油天然气股份有限公司天然气与管道分公司科研项目(2014D-4610-0501)
作者简介: 程琳(1992-),男,硕士研究生,主要研究方向为环境微生物技术. E-mail: czlin566@163.com
通讯作者: 陈吉祥. E-mail: chenjixiang@lut.cn

等方面[21],关于微生物的研究鲜有报道。而骆驼蓬根际微生物和宿主微生物在骆驼蓬适应干旱、强风沙的过程中具有重要作用。基于此,课题组采用纯培养的方法已经从骆驼蓬根际土壤中分离获得多株微生物菌株,并采用互作的方法筛选出可以提高骆驼蓬响应盐碱、干旱等逆境因子的菌株。同时,为了进一步挖掘促进骆驼蓬抗干旱和盐碱等的细菌资源和细菌抗性基因,本文采用高通量测序方法研究了骆驼蓬根际土壤细菌群落多样性,并与周边非根际土壤进行了比较,以期能够揭示骆驼蓬根际微生物在生态环境群体进化关系和修复中的作用,为荒漠草原生态保护和恢复提供科学依据,也为微生物资源利用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

所选地区属于甘肃省白银市,位于甘肃中部,地理位置 103°3′~105°34′E,35°33′~37°38′N,地处黄土高原和腾格里沙漠过渡地带,海拔 1 275 ~3 321 m。南部为中温带半干旱气候区,北部为冷温带干旱气候区。主要植被类型有骆驼蓬、怪柳、短花针茅,沙蒿等,其中骆驼蓬分布较为广泛。

1.2 样本采集

土壤样品采集于白银区荒漠草原地区(103°3′~105°34′E,35°33′~37°38′N),以正方形 5 点取样法设置样方,样方大小 5 m×5 m。每个样点采集完整根系骆驼蓬 3 株,去除表面 0 ~5 cm 处土壤,采用土壤剖面法采集 5 ~15 cm 处土壤,选择离根系 5 ~10 cm 的土样作为非根际土壤;然后用力将附着于根表面上的土壤全部抖落下来,便获得根际土壤。将取好的土样装入灭菌塑封袋内,封好袋口,记录取样地点和时间。分别将采集的非根际和根际土壤混合均匀,一部分土样立即进行土壤微生物计数分离培养,另一部分土样于阴凉干燥处保存。用于高通量测序。

1.3 高通量测序分析

取 0.25 g 均匀混合的土样,用土壤基因组 DNA 抽提试剂盒提取土壤总 DNA。用微量紫外分光光度计测定 DNA 浓度和纯度(OD_{260}/OD_{280} 和 OD_{260}/OD_{230})。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取效果。

将基因组 DNA 作为 PCR 模板,使用通用引物 515F(5’–GTGCCAGCMGCCGCGG–3’)和 909R(5’–CCCCGYCAATTCMTTTRAGT–3’)扩增土壤微生物 16S rDNA,反应在 50 μL 体系中进行:dNTP 4.0 μL,10 × PCR buffer 5.0 μL,515F/909R(10 μM)各 1.0 μL,Taq 酶 0.5 μL,DNA 模板 2.0 μL,无菌超纯水 37.5 μL。PCR 扩增条件:94 ℃预变性 2 min,94 ℃变性 30 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 60 s,32 个循环后,72 ℃延伸 10 min。获得扩增产物之后进行切胶纯化,并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物纯化效果,然后将纯化产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司 Illumina Miseq 平台进行高通量测序。

1.4 可培养细菌计数及分离

称取预处理土样 10 g 加入到盛有 90 mL 无菌水的锥形瓶中,振荡 2 h 左右,使土样中细菌均匀分散,制成 10^{-1} 稀释度土壤稀释液。按 10 倍稀释法制成 10^{-2}、10^{-3}、10^{-4} 系列土壤稀释液。取不同稀释度的土壤悬浮液 150 μL,每个稀释度设置 3 个平行,分别接种于不同 LB(Luria–Bertani)琼脂培养基平板,涂抹均匀,于 30 ℃生化培养箱过夜培养;待菌落生长良好,统计菌落数目,挑选不同单菌落进行纯培养。

细菌鉴定:从 LB 琼脂培养基分离单菌落,按《常见细菌鉴定手册》[22],根据菌落与细胞形态、革兰氏染色、芽孢染色等进行初步鉴定,再经 16S rDNA 序列分析[23]。利用细菌通用引物 27F(5’–AGAGTTTGATCCTGGCTCAG–3’)及 1492R(5’–GGTTACCTTGTTACGACTT–3’)进行 PCR 扩增,扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

1.5 数据处理

Miseq 测序序列中含有 barcode 序列,以及测序时加入的引物和接头序列。首先去除引物接头序列,再根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对的 reads 拼接(merge)成一条序列,按照 barcode 标签序列识别并区分样品,得到各样本数据,对各样本数据质量进行质控过滤,得到各样本有效数据。用 RDP classifier 软件对序列进行物种分类,依据分类学分析比对结果,对土样菌群结构进行分类和丰度分析,通过 R、ORIGIN 8.1 软件绘制图表。NCBI Blast(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)对可培养细菌 16S rDNA PCR 进行扩增测序和比对分析。

2　结果与分析

2.1　高通量测序分析

Shannon 指数是用来估算微生物多样性的重要指数,利用各土样的测序量,在不同测序长度时的微生物多样性构建 Shannon 指数曲线,可以反映各样本物种多样性随测序量的变化情况。本实验将每个样品序列数标准化到 20 000 条后,计算不同样品 Shannon 指数。如图 1 所示,骆驼蓬根际与周边非根际土壤均具有较高 Shannon 指数,分别为 6.32 和 6.08,说明 2 个土样微生物多样性较丰富,且根际土壤微生物多样性指数高于周边。当测序序列超过 15 000 时,曲线趋于平稳,说明本次高通量测序能反应样品中大多数微生物信息,得到的数据具有较高可信度。

通过高通量测序分析,根际土样细菌有 24 个门,44 个纲,88 个目,179 个科,400 个属;周边土样细菌有 23 个门,43 个纲,80 个目,167 个科,344 个属。进一步对根际与周边土壤在门和属水平上进行群落分析,如图 2 所示,骆驼蓬根际土壤优势细菌群为放线菌门(Actinobacteria)30.01%、变形菌门(Proteobacteria)23.98%、拟杆菌门(Bacteroidetes)11.53%、酸杆菌门(Acidobacteria)10.19%、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)8.42%、疣微菌门(Verrucomicrobia)3.97%、绿弯菌门(Chloroflexi)2.71%、厚壁菌门(Firmicutes)1.35%、蓝细菌门(Cyanobacteria)1.27%、浮霉菌门(Planctomycetes)0.92%,占根际土壤微生物总量的 94.35%。周边荒漠草原土壤优势细菌群为放线菌门 55.05%,变形菌门 21.11%,酸杆菌门 6.07%、厚壁菌门 4.13%、拟杆菌门 3.49%、绿弯菌门 2.47%、芽单胞菌门 1.49%、浮霉

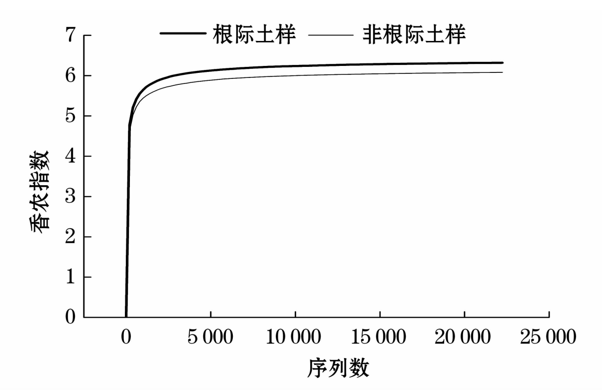


图 1　香农指数曲线

Fig. 1　Shannon – Wiener curve

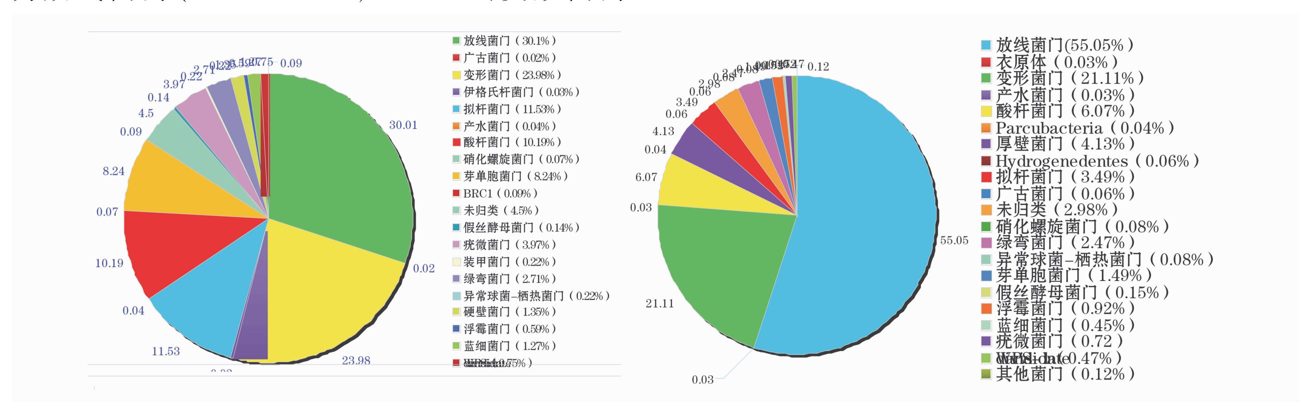


图 2　根际(a)与周边(b)土壤微生物在门水平的优势群落

Fig. 2　Microbial community structure at phylum level in rhizosphere (a) and non – rhizophere soils (b)

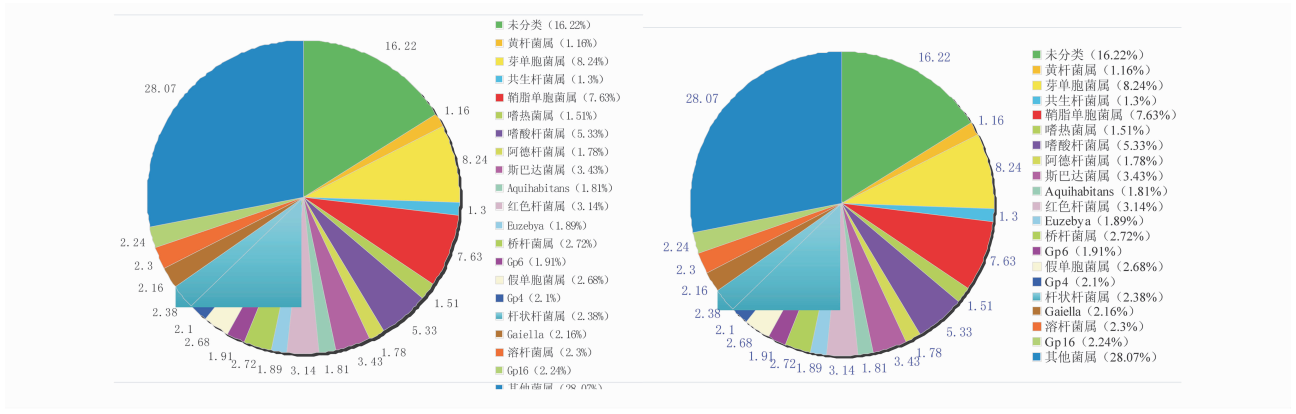


图 3　根际(a)与周边(b)土壤微生物在属水平的优势菌属

Fig. 3　Microbial community structure at genus level in rhizosphere (a) and non – rhizophere soils (b)

菌门0.92%、疣微菌门0.72%，蓝细菌门0.45，占周边土壤微生物总量的95.90%。根际土壤比周边土壤细菌多1个嗜热丝菌门(Caldiserica)，该门目前只有一个确认的嗜热丝菌属(*Caldisericum*)。

在属水平上的统计分析结果如图3所示，根际土壤细菌优势菌属为芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)8.24%、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)7.63%、酸土单胞菌属(*Aciditerrimonas*)5.33%、*Spartobacteria genera incertae sedis*(3.43%)、红杆菌属(*Rubrobacter*)3.14%、*Pontibacter*(2.72%)、假单胞菌属2.68%、*Aridibacter*(2.38%)、*Solirubrobacter*(2.3%)、*GP*16(2.24%)。周边土壤细菌优势菌属为*Gaiella*(8.72%)、假单胞菌属7.83%、栖热嗜油菌属(*Thermoleophilum*)4.18%、*GP*16(4.04%)、酸土单胞菌属(*Aciditerrimonas*)3.17%、鞘氨醇单胞菌属2.67%、*Solirubrobacter*(2.63%)、*Conexibacter*(2.23%)、*Aquihabitans*(1.75%)、芽单胞菌属1.49%。根际与周边土壤微生物在属水平上组成与相对丰度存在明显差异。

2.2 可培养细菌数量及主要类群

通过稀释平板计数得知，根际土壤可培养细菌数量为1.46×10^7 cfu·g^{-1}，根际周边土壤细菌数为8.9×10^6 cfu·g^{-1}。用稀释平板划线法分离纯化得到33株不同菌株，通过细菌形态生理及16S rDNA序列对比分析，发现骆驼蓬根际与周边土壤可培养细菌种类存在差异(表1)。根际与周边土壤可培养细菌类群包括变形菌门、厚壁菌门、放线菌门。其中根际土壤分离的优势菌为短杆菌属(23.53%)、芽孢杆菌属(23.53%)、假单胞菌属(17.65%)和短波单胞菌属(*Brevundimonas*)(11.76%)，周边土壤可培养细菌的优势种群为节杆菌属(37.50%)、芽孢杆菌属(18.75%)、假单胞菌属12.50%。

表1 骆驼蓬根际与非根际可培养细菌多样性

Tab.1 Diversities of culturable bacteria of rhizosphere and non-rhizophere soils

根际			非根际		
菌株编号	最相似菌株	相似度	菌株编号	最相似菌株	相似度
LTPG1	*Bacillus litoralis*	99%	*LTPFG1*	*Arthrobacter siccitolerans*	99%
LTPG2	*Pseudomonas punonensis*	99%	LTPFG2	*Brevibacterium frigoritolerans*	100%
LTPG3	*Brachybacterium phenoliresistens*	100%	LTPFG3	*Arthrobacter oxydans*	99%
LTPG4	*Bacillus atrophaeus*	100%	LTPFG4	*Pseudomonas lutea*	100%
LTPG5	*Brevibacterium frigoritolerans*	99%	LTPFG5	*Pseudomonas lutea*	99%
LTPG6	*Brevibacterium frigoritolerans*	99%	LTPFG6	*Brevibacterium frigoritolerans*	100%
LTPG7	*Brevibacterium frigoritolerans*	100%	LTPFG7	*Bacillus pseudomycoides*	100%
LTPG8	*Brevibacterium frigoritolerans*	100%	LTPFG8	*Planomicrobium okeanokoites*	100%
LTPG9	*Paenibacillus lautus*	100%	LTPFG9	*Arthrobacter oxydans*	99%
LTPG10	*Brevundimonas olei*	100%	LTPFG10	*Planomicrobium koreense*	99%
LTPG11	*Micrococcus terreus*	99%	LTPFG11	*Bacillus foraminis*	100%
LTPG12	*Brevundimonas olei*	99%	LTPFG12	*Arthrobacter oxydans*	100%
LTPG13	*Sinorhizobium meliloti*	99%	LTPFG13	*Bacillus foraminis*	99%
LTPG14	*Bacillus salsus*	99%	LTPFG14	*Arthrobacter tumbae*	100%
LTPG15	*Bacillus litoralis*	99%	LTPFG15	*Arthrobacter oxydans*	100%
LTPG16	*Pseudomonas koreensis*	100%	LTPFG16	*Brevundimonas olei*	99%
LTPG17	*Pseudomonas seleniipraecipitans*	100%			

注：相似度是将测序序列通过NCBI Blast比对后与已知序列相似程度，以百分比计。

3 讨论

通过高通量测序分析，骆驼蓬根际土样细菌多样性丰富，有24个门，44个纲，88个目，179个科，400个属；根际周边土样细菌有23个门，43个纲，80个目，167个科，344个属。通过传统的可培养方法共分离出根际土样细菌8个属，根际周边土样细菌6个属。在数量上根际土样细菌为1.46×10^7 cfu·g^{-1}，根际周边土样细菌为8.9×10^6 cfu·g^{-1}。无论是非培养角度还是可培养角度分析，均体现为骆驼蓬的根际土壤微生物多样性高于周边土壤。根际土是围绕根系进行生物地球化学循环最活跃的区域，是土壤—植物—根系微生物三者相互作用的场所和各种物质循环及能量流动的门户，对生态系统养分动态分布与循环、植物种间作用等发挥着重要作用。根系从环境中摄取养料和水分，也向环境中释放大量含糖有机物质，使得土壤微生物大量聚集到根周围生存与繁殖，从而使植物根系成为培养土壤微生

物的场所[9-10,14]。荒漠区土壤养分含量较贫瘠,这一区域植物"根际效应"及根际对养分的截留效应较为明显[24]。本文结论与"根际效应"理论相符。安韶山等选择宁南山区9种典型植物根际与非根际土壤为研究对象,采用 Biolog 方法对土壤微生物功能多样性进行了研究,除冰草的根际土壤微生物多样性指数和均匀度指数小于非根际土壤以外,其他各种植物的根际土壤微生物多样性指数和均匀度指数都大于非根际土壤[25]。李春格等采用大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响进行了研究,试验结果表明,在结荚期和收获期根际微生物群落功能多样性均显著高于土体[26]。

根际细菌多数有利于植物生长,它们供给植物营养,增强植物对氮素的摄入,保护植物免受病原菌的侵害[27-29]。因此,通过根系与微生物的互作效应,根际和非根际土壤细菌在组成和结构上产生了显著差异。在门的水平上,根际土壤比周边土壤细菌多一个嗜热丝菌门,该门目前只有一个确认的菌属,根际与周边土壤的优势门种类相同,但各自的比例差异较大。在属水平上,根际与周边土壤细菌有明显差异,根际土壤特有优势菌属为 *Flavisolibacter*、*Adhaeribacter*、*Pontibacter*、*Aridibacter*、*GP4*、*Spartobacteria*;周边土壤特有优势菌属为芽球菌属(*Blastococcus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、节杆菌属、嗜氢菌属(*Hyrogenophaga*)、*Thermasporomyces*、类诺卡氏菌属(*Nocardioides*)。分布在骆驼蓬根际的这些特定微生物类群功能各异,通过不同的方式促进土壤物质循环及转化,加速根际有机碳的分解,促进植物生长。如 *Flavisolibacter* 是一类属于降解纤维素的菌属[30];*Adhaeribacter* 能够产生大量细胞外纤维材料[31]。芽单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属及红杆菌属在骆驼蓬根际土壤中的含量有大幅度提升,芽单胞菌属是芽单胞菌门唯一正式命名的属,其作用与多磷酸盐积累有关[32]。鞘氨醇单胞菌属有极强降解芳香烃类物质的能力,由于自身代谢旺盛,在营养丰富的根际土壤分布比较多,有较强适应能力,能形成类似于真核细胞的酸性糖类细胞外膜,侵入植物体内,与植物共生,具有拮抗植物真菌作用[33]。红杆菌属为放线菌门的细菌,是一种抗性比较强的微生物,在荒漠草原土壤分布最丰富,红杆菌属及假单胞菌属的细菌还具有固氮的能力[34]。

纯培养分离细菌优势菌属与高通量测序获得的优势菌属并非完全对应,如根际土壤分离的优势菌为短杆菌属,高通量测序获得的根际土壤优势菌为芽单胞菌属,根际周边土壤分离的优势菌属为节杆菌属,高通量测序获得的根际土壤优势菌为 *Gaiella*;根际土壤分离的优势菌短杆菌属(23.53%)、芽孢杆菌属(23.53%)、短波单胞菌属(11.76%),在高通量测序中对应的占比分别为0.08%、0.18%和0.11%;周边土壤可培养细菌的优势菌为节杆菌属(37.50%)、芽孢杆菌属(18.75%),在高通量测序中对应的占比分别为0.86%和0.16%,结果表明有些优势微生物并不一定用传统培养技术获得。自然界绝大多数微生物是不可培养的,纯培养方法很难全面反映土壤微生物数量与组成。Torsvik 等[35]利用染色法在荧光显微镜下观察到1 g干重土壤中含有 4.2×10^{10} 个细菌细胞,而在培养平板上仅有 4.2×10^{6} 个细菌菌落形成。高通量测序是新兴的测序技术,它可直接测序16S rRNA 基因的 PCR 产物,是解析复杂环境中微生物群落物种组成和相对丰度的重要工具[36]。

夏围围等利用高通量测序技术针对新西兰典型草地和森林土壤进行了分析,两者土壤拥有9个相同的优势微生物类群,它们分别为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、疣微菌门、浮霉菌门、绿弯菌门和芽单胞菌门。刘洋等研究了黄土高原不同植被类型下在土壤中检测到的主要类群有放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、浮霉菌门、芽单胞菌门。本文研究了荒漠草原骆驼蓬根际土壤微生物多样与周边土壤在门上的优势种群与夏围围、刘洋等[37-38]一致。王卫霞等研究表明,荒漠植物根际土壤微生物数量、组成与根外有较大差异且表现为根际土壤微生物数量及组成均高于周边非根际土壤[39]。无论是从非培养角度还是可培养角度分析,骆驼蓬的根际土壤微生物多样性与可培养细菌数量均高于周边土壤,这与王卫霞等[39]研究结果一致。荒漠植物增加了根际微生物的数量及活性,促进了土壤养分的积累和转化,对于维持荒漠生态系统的功能具有重要的作用。

参考文献(References):

〔1〕 Yao K Y, Huang C Y. Soil Microbial Ecology and Experiment Technology〔M〕. Beijing: Science Press, 2006: 7-17.

〔2〕 Dodd J C, Boddington C L, Rodriguez A, et al. Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: Form, function and detection〔J〕. Plant and Soil, 2000, 226(2): 131-151.

〔3〕 O'Donnell A G, Seasman M, Macrae A, et al. Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function

in soils[J]. Plant and Soil,2001,232(1):135 – 145.

[4] Smith K P,Goodman R M. Host Variation for interactions with beneficial plant – associated microbes [J]. Annual Review of Phytopathology,1999,37(37):473 –491.

[5] Amann R I,Ludwig W,Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiological reviews,1995,59(1):143 – 169.

[6] Torsvik V,Sørheim R,Goksøyr J. Total bacterial diversity in soil and sediment communities:A review[J]. Journal of Industrial Microbiology,1996,17(3 –4):170 – 178.

[7] Pace N R. Problems with "procaryote"[J]. Journal of Bacteriology,2009,191(7):2 008 –2 010.

[8] Gupta R,Bisaria V S,Sharma S. Response of rhizospheric bacterial communities of Cajanus cajan,to application of bioinoculants and chemical fertilizers:A comparative study[J]. European Journal of Soil Biology,2016,75:107 – 114.

[9] Dubey R K,Tripathi V,Dubey P K,et al. Exploring rhizospheric interactions for agricultural sustainability:The need of integrative research on multi – trophic interactions[J]. Journal of Cleaner Production,2016,115:362 – 365.

[10] Meena V S,Meena S K,Verma J P,et al. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency:A review [J]. Ecological Engineering ,2017,107,8 – 32.

[11] Tan Y,Cui Y,Li H,et al. Rhizospheric soil and root endogenous fungal diversity and composition in response to continuous Panax notoginseng cropping practices [J]. Microbiological Research,2017,194:10 – 19.

[12] 李志杰,郭长城,石杰,等. 高通量测序解析多环芳烃污染盐碱土壤翅碱蓬根际微生物群落多样性[J]. 微生物学通报,2017,44(7):1 602 –1 612.[Li Zhijie,Guo Changcheng,Shi Jie,et al. Diversity of bacterial community in Suaeda roots rhizosphere growth in PAHs – contaminated saline soil estimated by high throughput sequencing method[J]. Microbiology China,2017,44(7):1 602 –1 612.]

[13] Asemoloye M D,Ahmad R,Jonathan S G. Synergistic action of rhizospheric fungi with Megathyrsus maximus root speeds up hydrocarbon degradation kinetics in oil polluted soil[J]. Chemosphere,2017. 187,1 – 10.

[14] Abhilash P C,Dubey R K,Tripathi V,et al. Plant Growth – Promoting Microorganisms for Environmental Sustainability[J]. Trends in Biotechnology,2016,34(11):847 –850.

[15] 峥嵘,白淑兰,李龙,等. 不同季节土庄绣线菊根围丛枝菌根真菌群落差异性研究[J]. 干旱区研究,2017,34(5):1 049 – 1 055.[Zheng Rong. Bai Shulan,Li Long,et al. Seasonal Variation of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Rhizosphere of Spiraea pubescens[J]. Arid Zone Research,2017,34(5):1 049 –1 055.]

[16] 杨军,傅德平,杨晓东,等. 艾比湖湿地自然保护区典型群落物种多样性分析[J]. 干旱区资源与环境,2010,24(2) :145 – 148.[Yang Jun,Fu Deping,Yang Xiaodong,et al. Study on the species diversity of typical plant communities in Ebinur Lake Wetland Nature Reserve[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment,2010,24(2):145 – 148.]

[17] 马文文,姚拓,靳鹏,等. 荒漠草原 2 种植物群落土壤微生物及土壤酶特征[J]. 中国沙漠,2014,34(1):176 – 183.[Ma Wenwen,Yao Tuo,Jin Peng,et al. Characteristics of microorganisms and activity under two plants communities in desert steppe[J]. Journal of Desert Research,2014,34(1):176 – 183.]

[18] 金荣,努尔巴依·阿布都沙力克,迈迪娜·吐尔逊. 5 种典型荒漠植物群落的物种多样性研究[J]. 安徽农业科学,2016,44(7):7 – 10.[Jin Rong,Nurbey·Abduslih,Maidina·Tursun. Species diversity of five kinds of typical desert plant communities[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2016,44(7):7 – 10.]

[19] 杨阳,刘秉儒. 荒漠草原不同植物根际与非根际土壤养分及微生物量分布特征[J]. 生态学报,2015,35(22):7 562 –7 570.[Yang Yang,Liu Bingru. Distribution of soil nutrient and microbial biomass in rhizosphere versus non – rhizosphere area of different plant species in desertified steppe[J]. Acta Ecologica Sinica,2015,35(22):7 562 –7 570.]

[20] 马骥,王勋陵. 中国荒漠地区骆驼蓬属植物种类与分布[J]. 中国沙漠,1998,18(2):131 – 136.[Ma Ji,Wang Xunling. The species and distribution of genus peganum L. in the desert area of China[J]. Journal of Desert Research,1998,18(2):131 – 136.]

[21] 李博,刘斌,时晓娟,等. 骆驼蓬的研究进展[J]. 中医药导报,2016,22(1):97 – 100.[Li Bo,Liu Bin,Shi Xiaojuan,et al. The Research Progress on Peganum harmala L.[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy,2016(1):97 – 100.]

[22] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.[Dong Xiuzhu,Cai Miaoying. Manual of Systematic and Determinative Bacteriology[M]. Beijing:Science Press,2001.]

[23] Von Wintzingerode F,B? cker S,Schl? telburg C,et al. Base – specific fragmentation of amplified 16S rRNA genes analyzed by mass spectrometry:a tool for rapid bacterial identification[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,2002,99(10):7 039 –7 044.

[24] 弋良朋,马健,李彦. 荒漠盐生植物根际土壤盐分和养分特征[J]. 生态学报,2007,27(9):3 564 –3 571.[Yi Linagpeng,Ma Jian,Li Yan. Soil salt and nutrient concentration in the rhizosphere of desert halophytes[J]. Acta Ecologica Sinica,2007,27(9):3 564 –3 571.]

[25] 安韶山,李国辉,陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性[J]. 生态学报,2011,31(18):5 225 –5 234.[An Shaoshan,Li Guohui,Chen Liding. Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non – rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Nixia[J]. Acta Ecologica Sinica,2011,31(18):5 225 –5 234.]

[26] 李春格,李晓鸣,王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报,2006,26(4):1 144 –1 150.[Li Chunge,Li Xiaoming,Wang Jingguo. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function[J]. Acta Ecologica Sinica,2006,26(4):1 144 –1 150.]

[27] Uroz S,Calvaruso C,Turpault M P,et al. Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil[J]. Applied and Environmental Microbiology,2007,73(9):3 019 –3 027.

[28] Cocking E C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen – fixing bacteria[J]. Plant and Soil,2003,252(1):169 – 175.

[29] Berg G,Zachow C,Lottmann J,et al. Impact of plant species and site on rhizosphere – associated fungi antagonistic to Verticillium dahliae Kleb[J]. Applied and Environmental Microbiology,2005,71(8):4 203 –4 213.

〔30〕 汪其同,朱婉芮,刘梦玲,等.基于高通量测序的杨树人工林根际和非根际细菌群落结构比较〔J〕.应用与环境生物学报,2015,21(5):967 –973.〔Wang Qitong,Zhu Wanrui,Liu Mengling,et al. Comparison on bacterial community of rhizosphere and bulk soil of poplar plantation based on pyrosequencing〔J〕. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology,2015,21(5):967 –973.〕

〔31〕 Zhang J Y,Liu X Y,Liu S J. Adhaeribacter terreus sp. nov. isolated from forest soil〔J〕. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology,2009,59:1 595 –1 598.

〔32〕 胡杰,何晓红,李大平,等.鞘氨醇单胞菌研究进展〔J〕.应用与环境生物学报,2007,13(3):431 –437.〔Hu Jie,He Xiaohong,Li Daping,et al. Progress in search of Sphingomonas〔J〕. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology,2007,13(3):431 –437.〕

〔33〕 Davis K E,Joseph S J,Janssen P H. Effects of growth medium,inoculum size,and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria〔J〕. Applied & Environmental Microbiology,2005,71(2):826 –834.

〔34〕 赵璇.中国北方主要草地类型土壤放线菌多样性和群落结构的比较研究〔D〕.东北师范大学,2015.〔Zhao Xuan. Comparison of Diversity and Structure of Soil Actinobacteria Communities Across the Main Grasslands in Northern China〔D〕. Northeast Normal University,2015.〕

〔35〕 Torsvik V,Ovreas L. Microbial diversity and function in soil:From genes to ecosystems〔J〕. Current Opinion in Microbiology,2002,5(3):240 –245.

〔36〕 Rinke C,Schwientek P,Sczyrba A,et al. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter〔J〕. Nature,2013,499(7459):431 –437.

〔37〕 夏围围,贾仲君.高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价〔J〕.微生物学报,2014,54(12):1 489 –1 499.〔Xia Weiwei,Jia Zhongjun. Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE〔J〕. Acta Microbiologica Sinica,2014,54(12):1 489 –1 499.〕

〔38〕 刘洋,黄懿梅,曾全超.黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究〔J〕.环境科学,2016,37(10):3 931 –3 938.〔Liu Yang,Huang Yimei,Zeng Quanchao. Soil bacterial communities under different vegetation types in the Loess Plateau〔J〕. Environmental Science,2016,37(10):3 931 –3 938.〕

〔39〕 王卫霞,罗明,潘存德.塔里木河下游几种荒漠植物根际土壤微生物及其活性〔J〕.中国沙漠,2010,30(3):571 –576.〔Wang Weixia,Luo Ming,Pan Cunde. Microorganisms and its biological activity in rhizospheric soil around desert plants at the lower reaches of Tarim River,Xinjiang,China〔J〕. Journal of Desert Research,2010,30(3):571 –576.〕

Diversities of bacterial community in rhizosphere soils of Peganum harmala L. in the desert steppe of northwestern China

CHENG Lin1,CHEN Ji –xiang1 *,LI Yan –lin1,WANG Yong –gang1,ZHANG Yan2

1. *School of Petrochemical Engineering*,*Lanzhou University of Technology*,*Lanzhou*,*GanSu Province* 730050,*China*;

2. *PetroChina Beijing Gas Pipeline Co. Ltd.* ,*Beijing* 100101,*China*

Abstract: Peganum harmala L. has strong resistance against harsh environments such as drought and low temperature. The plant plays an important role in maintaining the local ecological environments. In order to understand the mechanism of ecological adaptation and interaction with the environments,the characteristics of bacterial communities of Peganum harmala L. rhizosphere soil in Gansu BaiYin desert steppe region were studied by high –throughput sequencing and culture –dependent methods,and compared with those of the surrounding soils. The results showed that the bacterial community in the rhizosphere soil mainly consisted of 30.01% of Actinobacteria,23.98% of Proteobacteria,11.53% of Bacteroidetes,10.19% of Acidobacteria. The dominant bacterial community in the surrounding desert steppe are 55.05% of Actinobacteria,21.11% of Proteobacteria,6.07% of Acidobacteria,. The cultivable bacteria group included Firmicutes,Proteobacteria and Actinobacteria. Among the rhizosphere soil,the dominant bacteria are 23.53% of Brevibacterium, 23.53% of Bacillus, 17.65% of Pseudomonas and 11.76% of Brevundimonas. The dominant populations of bacteria in the surrounding soil are 37.50% of Arthrobacter, 18.75% of Bacillus and 12.50% of Pseudomonas. The bacterial communities between the Peganum harmala L. rhizosphere soil and its surrounding desert steppe soils showed significantly difference. The bacteria numbers and diversity index in the rhizosphere soil were significantly higher than those of the surrounding desert steppe soil. The results provided the scientific basis for exploring the interaction between the desert grassland plants and their rhizobacteria, and understanding the roles of the rhizobacteria in promoting plant growth and soil material transformation. It was also very useful to help us to screen the beneficial microorganisms, and protect the desert steppe ecosystems.

Key words: Desert steppe; Peganum harmala L.; Rhizosphere soil; Bacterial community;High throughput sequencing; Soil microorganism